

2004

特 許 協 力 条 約

10/511098

PCT

国際予備審査報告

(法第12条、法施行規則第56条)
[PCT 36条及びPCT規則70]

REC'D 24 SEP 2004

WIPO

PCT

出願人又は代理人 の書類記号 SK 2 4 5 WO	今後の手続きについては、国際予備審査報告の送付通知（様式PCT/ IPEA/416）を参照すること。	
国際出願番号 PCT/J P 0 3 / 0 8 0 2 0	国際出願日 (日.月.年) 2 5 . 0 6 . 2 0 0 3	優先日 (日.月.年) 2 5 . 0 6 . 2 0 0 2
国際特許分類 (IPC) Int. Cl' C12N15/09, C07K16/42, C07K19/00, C12N1/21, C12P21/02, C12N9/90 // (C12N1/21, C12R1:19), (C12P21/02, C12R1:19)		
出願人 (氏名又は名称) 積水化学工業株式会社		

1. 国際予備審査機関が作成したこの国際予備審査報告を法施行規則第57条 (PCT 36条) の規定に従い送付する。
2. この国際予備審査報告は、この表紙を含めて全部で 3 ページからなる。
- ☒ この国際予備審査報告には、附属書類、つまり補正されて、この報告の基礎とされた及び/又はこの国際予備審査機関に対してした訂正を含む明細書、請求の範囲及び/又は図面も添付されている。
(PCT規則70.16及びPCT実施細則第607号参照)
この附属書類は、全部で 5 ページである。

3. この国際予備審査報告は、次の内容を含む。

- I ☒ 国際予備審査報告の基礎
- II ☐ 優先権
- III ☐ 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての国際予備審査報告の不作成
- IV ☐ 発明の単一性の欠如
- V ☒ PCT 35条(2)に規定する新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての見解、それを裏付けるための文献及び説明
- VI ☐ ある種の引用文献
- VII ☐ 国際出願の不備
- VIII ☐ 国際出願に対する意見

国際予備審査の請求書を受理した日 2 6 . 1 2 . 2 0 0 3	国際予備審査報告を作成した日 0 3 . 0 9 . 2 0 0 4	
名称及びあて先 日本国特許庁 (IPEA/J P) 郵便番号 100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官 (権限のある職員)	4 N 9 8 3 9
	高 美葉子 電話番号 03-3581-1101 内線 3488	

様式PCT/IPEA/409 (表紙) (1998年7月)

I. 国際予備審査報告の基礎

1. この国際予備審査報告は下記の出願書類に基づいて作成された。(法第6条(PCT14条)の規定に基づく命令に
応答するために提出された差し替え用紙は、この報告書において「出願時」とし、本報告書には添付しない。
PCT規則70.16, 70.17)

☐ 出願時の国際出願書類

- ☒ 明細書 第 1-37 ページ、出願時に提出されたもの
明細書 第 _____ ページ、国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
明細書 第 _____ ページ、付の書簡と共に提出されたもの
- ☒ 請求の範囲 第 _____ 項、出願時に提出されたもの
請求の範囲 第 _____ 項、PCT19条の規定に基づき補正されたもの
請求の範囲 第 _____ 項、国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
請求の範囲 第 33-64 項、17.06.2004 付の書簡と共に提出されたもの
- ☒ 図面 第 1-5 ページ/図、出願時に提出されたもの
図面 第 _____ ページ/図、国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
図面 第 _____ ページ/図、付の書簡と共に提出されたもの
- ☒ 明細書の配列表の部分 第 1-21 ページ、出願時に提出されたもの
明細書の配列表の部分 第 _____ ページ、国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
明細書の配列表の部分 第 _____ ページ、付の書簡と共に提出されたもの

2. 上記の出願書類の言語は、下記に示す場合を除くほか、この国際出願の言語である。

上記の書類は、下記の言語である _____ 語である。

- ☐ 国際調査のために提出されたPCT規則23.1(b)にいう翻訳文の言語
☐ PCT規則48.3(b)にいう国際公開の言語
☐ 国際予備審査のために提出されたPCT規則55.2または55.3にいう翻訳文の言語

3. この国際出願は、ヌクレオチド又はアミノ酸配列を含んでおり、次の配列表に基づき国際予備審査報告を行った。

- ☐ この国際出願に含まれる書面による配列表
☒ この国際出願と共に提出された磁気ディスクによる配列表
☐ 出願後に、この国際予備審査(または調査)機関に提出された書面による配列表
☐ 出願後に、この国際予備審査(または調査)機関に提出された磁気ディスクによる配列表
☐ 出願後に提出した書面による配列表が出願時における国際出願の開示の範囲を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった
☒ 書面による配列表に記載した配列と磁気ディスクによる配列表に記載した配列が同一である旨の陳述書の提出があった。

4. 補正により、下記の書類が削除された。

- ☐ 明細書 第 _____ ページ
☒ 請求の範囲 第 1-32 項
☐ 図面 図面の第 _____ ページ/図

5. ☐ この国際予備審査報告は、補充欄に示したように、補正が出願時における開示の範囲を超えてされたものと認められるので、その補正がされなかったものとして作成した。(PCT規則70.2(c) この補正を含む差し替え用紙は上記1.における判断の際に考慮しなければならず、本報告に添付する。)

V. 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての法第12条(PCT35条(2))に定める見解、それを裏付ける文献及び説明

1. 見解

新規性 (N)	請求の範囲	33-64	有 無
	請求の範囲		
進歩性 (IS)	請求の範囲		有 無
	請求の範囲	33-64	
産業上の利用可能性 (IA)	請求の範囲	33-64	有 無
	請求の範囲		

2. 文献及び説明 (PCT規則70.7)

- 文献1: WO 00/075346 A1(メディカル リサーチ カウンシル) 2000.12.14
 文献2: Ideno A et al, Eur J Biochem, 2000, vol. 267(11), p. 3139-3149
 文献3: Behrens S et al, EMBO J, 2001, vol. 20(1-2), p. 285-294
 文献4: Maruyama T et al, Front Biosci, 2000, vol. 5, p. D821-836
 文献5: Huang GC et al, Protein Sci, 2000, vol. 9(6), p. 1254-1261
 文献6: Zarnt T et al, J Mol Biol, 1997, vol. 271(5), p. 827-837
 文献7: Arie JP et al, Mol Microbiol, 2001, vol. 39(1), p. 199-210
 文献8: Ratajczak T et al, J. Biol Chem, 1993, vol. 268(18), p. 13187-13192
 文献9: Pirkli F et al, J Mol Biol, 2001, vol. 308(4), p. 795-806
 文献10: Ramm K et al, J Biol Chem, 2000, vol. 275(22), p. 17106-17113

【請求の範囲33-64について】

請求の範囲33-64に係る発明は、文献1-10より進歩性を有しない。

文献1には、第一の核酸配列を発現できるプロモーターに作動可能に結合されたシャペロンポリペプチドのフラグメントをコードする第一の核酸配列と、前記核酸配列結合され、該第一の核酸配列と融合して発現されるように第二の核酸配列の挿入を可能にするクロニング部位とを含む発現ベクターについて記載され、第一の領域と第二の領域との間に切断可能なリンカー領域を更に含む旨、リンカーは、典型的には蛋白質分解酵素により、あるいはポリペプチドが切断に適したその他の手段により切断可能なポリペプチド鎖である旨、シャペロンフラグメントは融合タンパク質の所望のポリペプチドのN末端に配置される旨、このベクターによって抗体、内在性膜蛋白質等のタンパク質の調製に有利である旨、宿主細胞として大腸菌も用いられる旨、記載されている。

文献2には古細菌由来のFKBPタイプのPPIアーゼについて、文献3にはパーブリン型SurAタイプPPIアーゼについて、文献4には古細菌由来のPPIアーゼについての総論やFKBP型、パーブリン型、シクロフィリン型PPIアーゼについて、文献5にはトリガーファクタータイプのFKBP型PPIアーゼが、文献6にはトリガーファクタータイプのPPIアーゼのN末、C末断片を含む旨、文献7、10にはFkpAタイプPPIアーゼについて、文献8には、FKBP52タイプPPIアーゼについて、文献9には、Cyp40タイプPPIアーゼについて記載されている。

文献1に記載されるベクターにおけるシャペロンフラグメントとして、文献2-10に記載されるように、本願優先日以前にシャペロン活性を有する分子として周知であったPPIアーゼを適用すること、また、該PPIアーゼとして文献2-10に記載されるような特定のPPIアーゼを選択することに困難性はない。

33. (追加) (a) 分子シャペロン活性を有する P P I a s e をコードする第
1 コード領域、及び、
(b) 目的タンパク質をコードする第2コード領域を挿入することができる少な
くとも1つの制限酵素サイトを有する領域を含有する
- 5 ことを特徴とする発現ベクター。
34. (追加) 第1コード領域は、プロモーターに有効に連結しており、
制限酵素サイトは、第1コード領域と同じ解読枠内であって、前記第1コード領
域の下流にある
- 10 ことを特徴とする請求の範囲第33項記載の発現ベクター。
35. (追加) 第1コード領域と、第2コード領域を挿入することができる少な
くとも1つの制限酵素サイトを有する領域との間にあり、同じ解読枠内で翻訳さ
れてプロテアーゼ消化サイトとなる領域を有することを特徴とする請求の範囲第
- 15 33又は34項記載の発現ベクター。
36. (追加) 請求の範囲第33、34又は35項記載の発現ベクターに目的タ
ンパク質をコードする第2コード領域が組み込まれていることを特徴とする発現
ベクター。
- 20 37. (追加) 分子シャペロン活性を有する P P I a s e は、FKBP型 P P I
a s e であることを特徴とする請求の範囲第33、34、35又は36項記載の
発現ベクター。
- 25 38. (追加) 分子シャペロン活性を有する P P I a s e は、シクロフィリン型
P P I a s e であることを特徴とする請求の範囲第33、34、35又は36項
記載の発現ベクター。
39. (追加) 分子シャペロン活性を有する P P I a s e は、パーブリン型 P P

I a s eであることを特徴とする請求の範囲第33、34、35又は36項記載の発現ベクター。

40. (追加) FKBP型PPIaseは、古細菌由来FKBP型PPIase
5 であることを特徴とする請求の範囲第37項記載の発現ベクター。

41. (追加) 古細菌由来FKBP型PPIaseは、ショートタイプFKBP
型PPIaseであることを特徴とする請求の範囲第40項記載の発現ベクター
。

10

42. (追加) 分子シャペロン活性を有するPPIaseは、古細菌由来FKB
P型PPIaseのIFドメイン、及び／又は、C末端ドメインを含有している
ことを特徴とする請求の範囲第33、34、35、36、37、38又は39項
記載の発現ベクター。

15

43. (追加) FKBP型PPIaseは、トリガーファクタータイプPPIa
s eであることを特徴とする請求の範囲第37項記載の発現ベクター。

44. (追加) 分子シャペロン活性を有するPPIaseは、トリガーファクタ
20 ータイプPPIaseのN末端ドメイン、及び／又は、C末端ドメインを含有し
ていることを特徴とする請求の範囲第33、34、35、36、37、38又は
39項記載の発現ベクター。

45. (追加) FKBP型PPIaseは、FkpAタイプPPIaseである
25 ことを特徴とする請求の範囲第37項記載の発現ベクター。

46. (追加) 分子シャペロン活性を有するPPIaseは、FkpAタイプP
PIaseのN末端ドメインを含有していることを特徴とする請求の範囲第33
、34、35、36、37、38又は39項記載の発現ベクター。

47. (追加) FKBP型PPIaseは、FKBP52タイプPPIaseであることを特徴とする請求の範囲第37項記載の発現ベクター。

5 48. (追加) 分子シャペロン活性を有するPPIaseは、FKBP52タイプPPIaseのC末端ドメインを含有していることを特徴とする請求の範囲第33、34、35、36、37、38又は39項記載の発現ベクター。

10 49. (追加) シクロフィリン型PPIaseは、CYP40タイプPPIaseであることを特徴とする請求の範囲第38項記載の発現ベクター。

50. (追加) 分子シャペロン活性を有するPPIaseは、CYP40タイプPPIaseのC末端ドメインを含有していることを特徴とする請求の範囲第33、34、35、36、37、38又は39項記載の発現ベクター。

15

51. (追加) パーブリン型PPIaseは、SurAタイプPPIaseであることを特徴とする請求の範囲第39項記載の発現ベクター。

20 52. (追加) 分子シャペロン活性を有するPPIaseは、SurAタイプPPIaseのN末端ドメインを含有していることを特徴とする請求の範囲第33、34、35、36、37、38又は39項記載の発現ベクター。

25 53. (追加) 第2コード領域は、モノクローナル抗体をコードする塩基配列を有することを特徴とする請求の範囲第36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51又は52項記載の発現ベクター。

54. (追加) 第2コード領域は、膜タンパク質をコードする塩基配列を有することを特徴とする請求の範囲第36、37、38、39、40、41、42、

43、44、45、46、47、48、49、50、51又は52項記載の発現ベクター。

55. (追加) 請求の範囲第33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53又は54項記載の発現ベクターを内包していることを特徴とする宿主。

56. (追加) 大腸菌であることを特徴とする請求の範囲第55項記載の宿主。

10 57. (追加) 分子シャペロン活性を有するPPIase及び目的タンパク質を含有することを特徴とする融合タンパク質。

58. (追加) 分子シャペロン活性を有するPPIaseと目的タンパク質との間に、プロテアーゼ消化サイトを含有することを特徴とする請求の範囲第57項記載の融合タンパク質。

59. (追加) 分子シャペロン活性を有するPPIase及び目的タンパク質を含有する融合タンパク質を製造する方法であって、請求の範囲第36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53又は54項記載の発現ベクターに、前記融合タンパク質を発現させることを特徴とする融合タンパク質の製造方法。

25 60. (追加) 発現ベクターを内包する宿主を、前記発現ベクターの発現条件下で培養し、融合タンパク質を細胞質に発現させることを特徴とする請求の範囲第59項記載の融合タンパク質の製造方法。

61. (追加) 発現ベクターの第1コード領域の5'末端又は第2コード領域の5'末端に転写及び翻訳されてシグナル配列となる領域を設けて、前記発現ベク

ターを内包する宿主を、前記発現ベクターの発現条件下で培養し、融合タンパク質をペリプラズム又は培地に発現させることを特徴とする請求の範囲第59項記載の融合タンパク質の製造方法。

5 62. (追加) 発現ベクターに、無細胞翻訳系において、融合タンパク質を発現させることを特徴とする請求の範囲第59項記載の融合タンパク質の製造方法。

63. (追加) P P I a s e 活性を阻害するマクロライド、シクロスポリン、ジ
 10 ュグロン、又は、これらの類縁化合物を担持した担体に、前記融合タンパク質を
 吸着させた後、前記担体を回収し、担体から融合タンパク質を回収することを特
 徴とする請求の範囲第59、60、61又は62項記載の融合タンパク質の製造
 方法。

64. (追加) 目的タンパク質を製造する方法であって、請求の範囲第59、6
 15 0、61、62又は63項記載の方法で得られたプロテアーゼ消化サイトを有す
 る融合タンパク質をプロテアーゼ消化サイトを消化するプロテアーゼで消化す
 ることを特徴とする目的タンパク質の製造方法。